

令和 4 年 6 月 14 日現在

機関番号：32202

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2021

課題番号：17K10763

研究課題名(和文) 大動脈二尖弁の胸部大動脈拡大における壁せん断応力感受性遺伝子の同定と機能解析

研究課題名(英文) Characterization of wall shear stress sensitive genes in bicuspid aortic valve aortopathy

研究代表者

川人 宏次 (Koji, Kawahito)

自治医科大学・医学部・教授

研究者番号：90281740

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：共培養実験は、ヒト大動脈血管内皮細胞(EC)と平滑筋細胞(SMC)を使用した。A：EC単独培養・B：SMC単独培養・C：EC・SMC共培養の3モデルを準備し、低(2Pa)/高(20Pa)剪断応力(WSS)を24時間負荷し培養細胞からRNAを抽出した(n=2)。ヒト大動脈二尖弁例の上行大動脈組織は高WSS(大彎)と低WSS(小彎)部の内中膜からRNAを抽出した(各n=2-4)。DNAマイクロアレイで、培養モデルとヒト組織で共通の発現変動を認められたのは1039遺伝子で、細胞骨格や接着因子に関する遺伝子群の他、SMC代謝・EC増殖・アポトーシス関連遺伝子群が高WSSの影響を受ける可能性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

大動脈二尖弁は約半数の症例で上行大動脈が拡大する。胸部大動脈拡大は解離や破裂の原因となるため、病態解明は治療成績向上のため重要だが、大動脈二尖弁症例に合併する胸部大動脈拡大の発生機序は十分に解明されていない。

本研究により、大動脈二尖弁に特有な血行力学ストレスに感受性を有する遺伝子群と疾患経路が同定され、従来提唱されてきたMMP・TIMP代謝異常以外の疾患経路が存在する可能性が示唆された。大動脈二尖弁症例は、解離や破裂などの重篤な大動脈疾患の発生頻度が高いことが報告されているが、本研究成果は、治療成績向上につながる創薬および新規バイオマーカー開発につながる可能性を有する。

研究成果の概要(英文)：We conducted a gene expression profiling using tissues and endothelial cells (EC)-smooth muscle cells (SMC) culture model. In patients with bicuspid valve, the ascending aorta tissues were harvested in the greater (high WSS) and lesser (low WSS) curvature, respectively (n=2-4). Three in vitro models, including EC monoculture, SMC monoculture, and EC-SMC coculture, were exposed to high (20 Pa) or low (2 Pa) WSS for 24 hours (n=2). RNAs were isolated in tissues and in vitro models for microarray.

Of 58341 probes, 1039 were differentially expressed (1.2> fold change and p<0.1) both in tissues and at least 1 in vitro model. The differentially expressed genes fell into 4 clusters: Cluster 1 (up in tissue and EC monoculture, n=147), Cluster 2 (up in tissue and all 3 models, n=289), Cluster 3 (down in tissue and all 3 models, n=205), and Cluster 4 (down in tissue and 1 model, n=398). Gene ontology analysis showed SMC migration, EC proliferation, and apoptosis pathways were affected by WSS.

研究分野：心臓血管外科

キーワード：大動脈二尖弁 剪断応力 共培養モデル 遺伝子発現解析

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

大動脈弁二尖弁は、頻度の高い先天性心疾患であり、人口に占める発生頻度は0.43%–0.73%と報告されている (Am J Cardiol. 2017;120:281-91, JAMA. 2021;325:561-7)。大動脈弁二尖弁による心臓弁膜疾患は世界的に増加傾向で、米国では弁膜疾患の原因として最多である。本邦でも大動脈弁手術件数は増加傾向であり、今後、大動脈二尖弁に起因する大動脈弁疾患の手術件数の増加が予測される。大動脈二尖弁は、約半数の症例で上行大動脈が拡大する (N Engl J Med. 2014;370:1920-9)。大動脈拡大は解離や破裂の原因となるため、病態解明は治療成績向上のため重要である。

大動脈弁二尖弁は複数の遺伝子異常による多因子遺伝疾患であるが、二尖弁に合併する大動脈拡大も、大動脈壁の先天的脆弱性が発症に関与すると報告されている (genetic theory)。また、流体力学研究により、大動脈二尖弁に特徴的な血流異常が壁せん断応力 (wall shear stress: WSS) などの血行力学ストレスを介し、大動脈を拡大させる機序も提唱されている (hemodynamic theory)。当研究グループはこれまで、数値流体力学計算 (CFD: computational fluid dynamics) を用いたコンピューター血流解析研究を行い、大動脈二尖弁に合併する上行大動脈拡大症例では、主として特徴的な右回旋の螺旋血流が認められ、上行大動脈近位大彎側を中心に WSS が上昇することを明らかにした (図1 J Thorac Cardiovasc Surg. 2017;153:S52-62)。しかしながら、WSS: 20Pa を超える高 WSS 負荷の生体環境を simulation する *in vitro* 実験モデルはなく、WSS の上昇がもたらす大動脈壁組織への生体反応及び大動脈拡大の病態はこれまで十分に解明されていなかった。

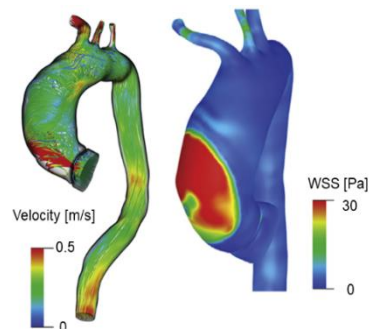


図1：大動脈二尖弁狭窄に合併した上行大動脈拡大症例。右回旋の螺旋血流（左）と上行大動脈近位大彎側の壁せん断応力上昇を認める。  
WSS; wall shear stress

### 2. 研究の目的

本研究では、(1) 血管内皮細胞と血管平滑筋細胞の共培養モデルを用いた WSS 負荷実験の細胞と(2)ヒト大動脈二尖弁狭窄患者の拡大した上行大動脈組織を使用した網羅的遺伝子発現解析実験を行い、高 WSS 下に発現変動する大動脈内膜・中膜組織の疾患経路と遺伝子群を同定することを目的とした。

### 3. 研究の方法

以下の研究は、自治医科大学 (承認番号：遺 17-18) の研究倫理委員会の承認の元、施行した。

#### (1) WSS 負荷血管内皮細胞と血管平滑筋細胞の共培養モデル実験

##### ① 使用細胞と細胞の培養方法

実験には、ヒト大動脈血管内皮細胞 (Human Aortic Endothelial Cells) とヒト大動脈平滑筋細胞 (Human Aortic Smooth Muscle Cells) を用いた (いずれも Lonza 社より購入)。培養液には Medium199 (M199, Thermo Fisher Scientific) を用いた。M199 粉末を 500mL の蒸留水に溶解し、緩衝化のため 2.2g の炭酸水素ナトリウム (Wako) を加えた。1 時間攪拌後、さらに 20% のウシ胎児血清 (Fetal Bovine Serum ;FBS, Wako) ・ 100unit/mL の抗生物質 (Penicillin-Streptomycin, Wako) および 10ng/mL の線維芽細胞成長因子 (basic-Fibroblast Growth Factor ;b-FGF) を加え、1 規定塩酸で pH を調整した後に蒸留水を加え全量を 1,000mL とした。フラスコに播種した細胞を 37°C ・ 5%CO<sub>2</sub> に維持されたインキュベータ内で培養した。実験には継代 3~7 代目の細胞を使用した。

##### ② 共培養モデルの作成

本研究では、血管平滑筋細胞を含有する圧縮コラーゲン組織を新規に作成した。コラーゲン溶液・MEM- $\alpha$  および再構成緩衝液を氷冷下にて 8:1:1 の割合で混ぜ合わせたものに平滑筋細胞を 400,000 cells/mL 懸濁した。モデル成型リングを予め設置した細胞培養ディッシュに流し込み全体に広げて、37°C で 30 分間インキュベートすることでコラーゲンゲル溶液をゲル化させた。その後、培養液を加え 3 日間培養した。培養液を取り除きメンブレンフィルタ・圧縮プレートの順で成形したコラーゲンゲルの上に設置した。培養液を 2mL 加えプレート専用遠心機 (Kubota) にセットし 3,000rpm ・ 754g ・ 10 分の条件で圧縮した。圧縮後、メンブレンフィルタ、圧縮プレートおよびモデル形成リングを圧縮コラーゲン組織がディッシュから剥がれないように注意して取り除いた (図2)。

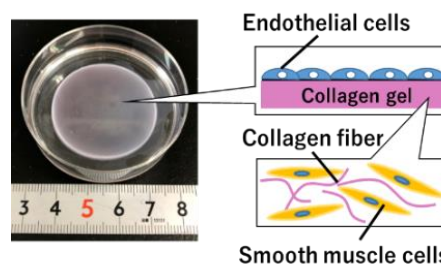


図2：圧縮コラーゲン組織を使用した血管内皮細胞/血管平滑筋細胞共培養モデル

##### ③ WSS 負荷共培養実験モデル

平行平板型フローチャンバを用いて WSS 負荷実験を行った。ローラーポンプ・パルスダンパ・リザーバ・フローチャンバをシリコンチューブおよびローラーポンプ用チューブで接続して WSS 負荷回路を構成した (図3 左)。フローチャンバの模式図を図3 右に示す。これらの器具を予め高圧滅菌装置を用いて滅菌を行った後に実験に使用した。定常流で低 WSS (2Pa) もしくは高 WSS (20Pa) を 24 時間共培養モデルに負荷した。ディッシュ上で作製した共培養モデルと I/O ユニットで厚さ 0.5mm または 0.3mm のガスケットを挟むことでフローチャンバを構築した。ガスケットの中心には 24mm×35mm の長方形の穴が空けられてお

り、この穴により形成される平行平板型流路内に培養液を灌流させることにより共培養モデルに WSS を負荷した。ローラーポンプから拍出された培養液の拍動性をパルスダンパーにより除去した。対象とした WSS は大動脈の生理的値である 2Pa (流量 :125mL/min, Re :90) および高 WSS 環境を想定した 20Pa (流量 :450mL/min, Re :324) とし、WSS 負荷時間を 24 時間とした。

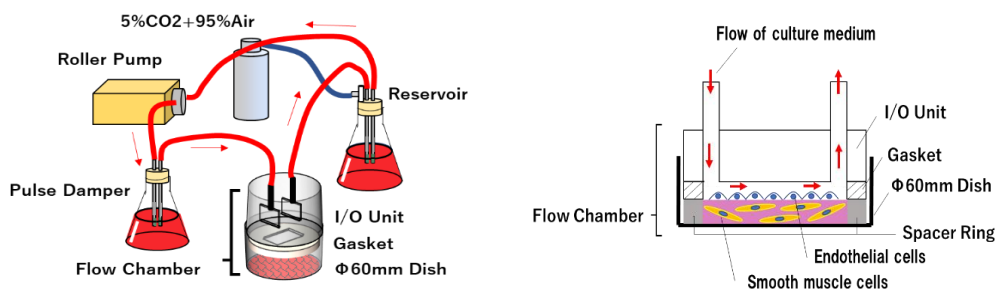


図 3 : WSS 負荷共培養実験モデルの全体像 (左) とフローチャンバの模式図 (右)

#### ④ DNA マイクロアレイ実験

今回の共培養モデル実験で、血行力学ストレスが及ぼす血管内皮細胞と血管平滑筋細胞に及ぼす影響を解析するために、3つの培養モデル (図 4 A : 単培養での単独血管内皮細胞培養モデル (Monoculture EC model) B : 共培養での単独血管平滑筋培養モデル (Coculture SMC model) , C : 共培養での血管内皮細胞 - 血管平滑筋細胞培養モデル (Coculture EC-SMC model) を準備した。各培養モデルで高 WSS (20 Pa) もしくは低 WSS (2 Pa) 負荷後、WSS が作用した部分だけを外科用メスで切り出し、マイクロチューブに回収した (各 n=2)。PBS で洗浄後、遠心分離しペレット状にした状態でマイクロチューブを液体窒素に浸し共培養モデルを急速凍結した。凍結サンプルを手動的にホモジナイザーにより粉碎した後に、RNA Tissue Miniprep System (プロメガ) を使用して各モデルの細胞群から RNA を抽出した。RNA integrity numbers (RIN)>5.0 を確認後、後述する DNA マイクロアレイ実験を施行した。

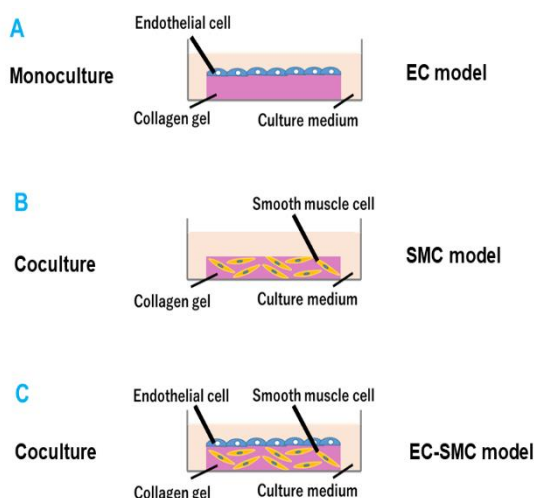


図 4 : DNA マイクロアレイ実験のための 3 つの培養モデル  
EC: endothelial cell, SMC: smooth muscle cell

#### (2) ヒト大動脈二尖弁狭窄症例の上行大動脈組織を用いた遺伝子発現解析

##### ① 患者

自治医科大学附属さいたま医療センター (研究期間 : 2018-2020 年) において、大動脈二尖弁性狭窄及び上行大動脈瘤の診断で、大動脈弁置換術+上行大動脈置換術が施行された 14 症例 (男性 10 例女性 4 例, 平均年齢 : 62.1±9.5 歳, 平均最大上行大動脈径/体表面積 : 3.03±0.58cm/m<sup>2</sup>) を対象とした。

##### ② 大動脈組織の採取と RNA 抽出

各症例で、1.5-2.0 cm のサイズで、高 WSS である上行大動脈近位大彎壁と低 WSS である上行大動脈遠位小彎壁を採取し (図 5)、液体窒素で凍結した。凍結組織をホモジナイズ後、RNeasy Mini Kit (Qiagen, Germantown, MD, USA) を使用し total RNA を抽出した。RNA 品質の評価を Agilent RNA 6000 Nano Kit and 2100 Bioanalyzer により行い、RIN>5.0 を満たした大彎・小彎各 4 検体ずつを選定し、DNA マイクロアレイ実験に使用した。

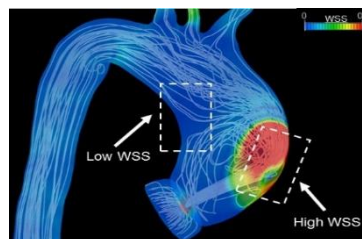


図 5 : 大動脈二尖弁狭窄に合併した上行大動脈拡大症例からの大動脈組織採取。WSS; wall shear stress

##### ③ DNA マイクロアレイ実験と bioinformatics 解析

DNA マイクロアレイ実験は、Agilent 社 SurePrint G3 Human GE アレイ chip (8×60K) を使用して実施した。データ解析には Subio platform (<https://www.subioplatform.com>) を使用した。正規化と前処理は、各サンプルの 75<sup>th</sup> percentile に揃える形で行い、low signal cutoff は測定値が 50 より低い領域は 50 に置換した。Log Transformation は 2 の対数に変換し、low WSS (大動脈組織 : 小彎側 or 培養実験 : 2 Pa) に対する high WSS (大動脈組織 : 大彎側 or 培養実験 : 20 Pa) の対比を行い、各クラスターに含まれるサンプルの平均値に対する比に変換した。fold changes>1.2 及び student t-test で p<0.1 を満たす場合を遺伝子発現変動ありと定義した。上記の 3 つの培養実験モデル (A : Monoculture EC model, B : Coculture SMC model, C : Coculture EC-SMC model) のどれか 1 モデルで、low WSS 群に対する high WSS 群の遺伝子発現変動を有し、ヒト大動脈組織においても、同様の low WSS 群 (小彎壁) に対する high WSS 群 (大彎壁) の遺伝子発現変動を認めた遺伝子群を共通変動遺伝子として選定した。

上記マイクロアレイデータの解析で選定された共通変動遺伝子群は、David Functional Annotation



(<https://david.ncicrf.gov/>) を使用して bioinformatics 解析を行い、Gene ontology (GO) 解析で高 WSS により影響を受ける疾患経路 (pathway) と遺伝子の同定を行った。

#### 4. 研究成果

##### (1) WSS 負荷血管内皮細胞と血管平滑筋細胞の共培養モデル実験

###### ① 共培養実験モデルの新規性

コラーゲンを細胞外基質として三次元培養した内皮細胞と平滑筋細胞を共培養した血管モデルは従来の研究でも用いられているものの、平滑筋細胞密度およびコラーゲン線維密度が健常な血管に比べ低いことが課題であった。本研究では、平滑筋細胞を含むコラーゲンを遠心機により圧縮することでこれらの課題を解決した新しい共培養モデルを作製した。

非圧縮型コラーゲンを使用した従来のモデルと、今回新規に作成した圧縮したコラーゲン組織を使用したモデルのコラーゲン線維画像を図 6 に示す。圧縮コラーゲン組織では、従来型に比べコラーゲン線維同士の重なりが多く見られた。また、圧縮コラーゲン組織モデルは、従来のモデルと比較して、組織中の平滑筋細胞の表面型マーカーである  $\alpha$ -SMA が増加することも確認された (図 7)。

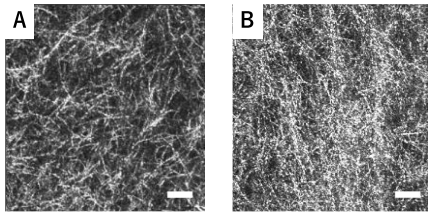


図 6 : コラーゲン組織の線維画像  
A : 従来モデル, B : 圧縮組織モデル

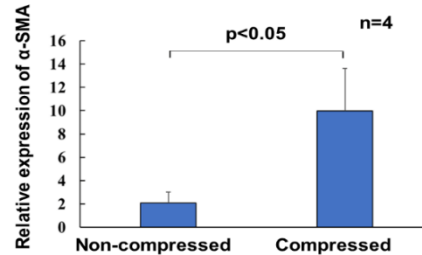


図 7 : 培養 7 日目の血管平滑筋細胞における  $\alpha$ -SMA 発現 (q-PCR)  
左 : 従来モデル, 右 : 圧縮組織モデル

###### ② DNA マイクロアレイ実験 : 培養実験モデルでの遺伝子発現変動

3つの培養実験モデル (A : Monoculture EC model, B : Coculture SMC model, C : Coculture EC-SMC model) それぞれで、高 WSS 負荷 (20Pa) と低 WSS 負荷 (2Pa) を 24 時間行い (各 n=2)、低 WSS 群に対して高 WSS 群で発現変動する遺伝子群を抽出した。

結果は、解析対象の 17313 遺伝子 (後述) 中、A : monoculture EC model で発現変動した遺伝子群は 2757 遺伝子 (15.9%)、B : Coculture SMC model で発現変動した遺伝子群は 846 遺伝子 (4.9%)、C : Coculture EC-SMC model で発現変動した遺伝子群は 554 遺伝子 (3.1%) であった。

##### (2) ヒト大動脈二尖弁狭窄症例の上行大動脈組織を用いた遺伝子発現解析

###### ① DNA マイクロアレイ実験 : ヒト大動脈組織での遺伝子発現変動

遺伝子発現変動が通常の遺伝子発現変動のパターンを呈さない doubt サンプル 2 検体を除外後、high WSS の大動脈組織大彎壁 (n=2) と low WSS の大動脈組織小彎壁 (n=4) で、DNA マイクロアレイによる網羅的遺伝子発現解析を行った。

58341 probe 中、まず outlier signal の 11 遺伝子を除外し、ヒト組織及び 3 つの培養実験モデル全てで検出限界以下の too low signal である 29004 遺伝子を除去した。残る 29326 遺伝子中、非変動の not fluctuated signal である 11691 遺伝子を除外した 17313 遺伝子を解析対象とした。このうち、1654 遺伝子 (9.6%) において、大動脈大彎壁 (high WSS) が大動脈小彎壁群 (low WSS) に比べて有意な遺伝子発現変動を認めた。

###### ② DNA マイクロアレイ実験 : ヒト大動脈組織と培養実験モデルとの関連性

上記の 3 つの培養実験モデルにヒト大動脈組織を加えた 4 つのグループでの比較の中で、少なくとも 1 つのグループで高 WSS vs. 低 WSS で遺伝子発現変動有との結果になったのは 5244 遺伝子であった。この 5244 遺伝子のうち、ヒト大動脈組織と 3 つの培養実験モデルのどれか 1 つで共通の遺伝子発現変動を認めた共通変動遺伝子群は 1039 遺伝子 (図 8) で、以下の 4 群に分類された。

Cluster 1 : ヒト大動脈組織と monoculture EC model に発現増強を認める遺伝子群, n=147

Cluster 2 : ヒト大動脈組織と培養実験 3 モデル

全てで発現増強を認める遺伝子群, n=289

Cluster 3 : ヒト大動脈組織と培養実験 3 モデル

全てで発現低下を認める遺伝子群, n=205

Cluster 4 : ヒト大動脈組織と培養実験 3 モデルのうち 1 つで発現低下を認める遺伝子群, n=398

これら 4 群に David Functional Annotation による GO 解析を実施した。

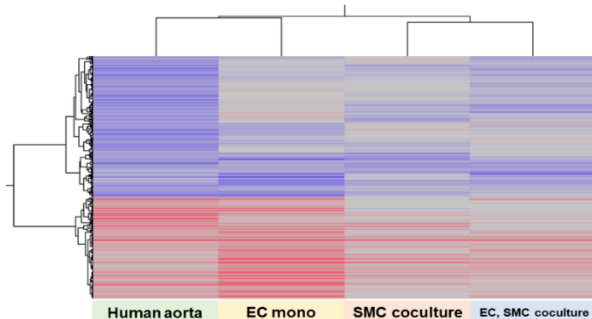


図 8 : ヒト大動脈組織と培養実験モデルで共通の遺伝子発現変動を認めた 1039 遺伝子群の microarray heat map  
EC: endothelial cell, SMC: smooth muscle cell

Cluster 1 では 17 個の GO term が同定された。代表的 GO term と発現増加遺伝子を表 1 に示す。17 中 3 つは actin filament 代謝や細胞骨格に関連するもの (表 1 緑) であり、17 中 2 つは接着因子に関連するもの (表 1 ピンク)、他 regulation of stress fiber assembly, intracellular signal transduction (表 1 黄) などであった。

GO term	DE Gene symbol
Actin filament organization	DBN1, CDC42, CDC42EP2, TPM3
Regulation of actin filament polymerization	DBN1, HCLS1, FAM49B
Positive regulation of actin cytoskeleton reorganization	CDC42, HCLS1
Negative regulation of focal adhesion assembly	ITGB1BP1, FAM107A
Integrin-mediated signaling pathway	ITGB1BP1, PPA2B, CDC42
Regulation of stress fiber assembly	CDC42, PTGER4
Intracellular signal transduction	GMIP, ITGB1BP1, HCLS1, NLR3, ASB8, MAPK11

表 1 : Cluster1 の GO 解析

GO: gene ontology DE: differentially expressed

Cluster 2 では 30 個の GO term が同定された。代表的 GO term と発現増加遺伝子を表 2 に示す。cellular response to laminar fluid shear stress, muscle contraction, smooth muscle cell migration が同定された (表 2 緑)。30 中 3 つは細胞骨格に関連するもの (表 2 ピンク) であり、他 Rho protein signal transduction (表 2 黄) などであった。

GO term	DE Gene symbol
Cellular response to laminar fluid shear stress	KLF2, KLF4
Muscle contraction	MYL6, GJC1, HSBP1, KCNJ12
Smooth muscle cell migration	PLAT, ARPC5
Microtubule-based process	DYNLL1, TUBA1A, TUBA1B, TUBA1C, TUBB2A
Microtubule cytoskeleton organization	TUBA1A, TUBA1B, TUBA1C, TUBB2A, TXNDC9
Cytoskeleton-dependent intracellular transport	TUBA1A, TUBA1B, TUBA1C, KIF1C
Rho protein signal transduction	RHOA, GNA13, TAX1BP3, PLEKHG5

表 2 : Cluster2 の GO 解析

GO: gene ontology DE: differentially expressed

Cluster 3 と Cluster 4 の GO 解析では、それぞれ 30 個・41 個の GO term が同定された。それぞれ代表的な GO term と高 WSS で発現減弱した遺伝子を表 3 に示す。Cluster 3 では、response to hypoxia や positive regulation of angiogenesis などの GO term で TGFBR2 が同定された (表 3 緑)。Cluster 4 では、negative regulation of endothelial cell proliferation, negative regulation of cell proliferation, negative regulation of extrinsic apoptotic signaling pathway, positive regulation of transcription of Notch receptor target などの GO term が同定された (表 3 ピンク)。

GO term	DE Gene symbol
<b>Cluster 3</b>	
Response to hypoxia	TGFBR2, SLC2A1, ITPR2, NOX4, THBS1, PLOD2
Positive regulation of oxidoreductase activity	TGFBR2, NOX4, THBS1
Positive regulation of reactive oxygen species metabolic process	ABL2, ATP7A
Positive regulation of angiogenesis	TGFBR2, THBS1, PLCG1, DDAH1
<b>Cluster 4</b>	
Negative regulation of endothelial cell proliferation	APOE, NF1, SCG2
Negative regulation of cell proliferation	SH3BP4, TIAL1, NF1, REST, RAPGEF2, TPTE, MDM4, CDC73, APP, MDM4, PTFN14
Positive regulation of transcription of Notch receptor target	MAML2, RBM15
Negative regulation of extrinsic apoptotic signaling pathway	SCG2, CTTN, ZMYND11

表 3 : Cluster3 と Cluster4 の GO 解析

GO: gene ontology DE: differentially expressed

これまで高WSS負荷が及ぼす大動脈組織に及ぼす生体反応を、ヒト大動脈組織と血行力学ストレスを負荷する培養実験モデル双方を使用して、網羅的遺伝子発現解析を用いて評価した報告はなかった。今回、我々は、ヒト疾患組織とヒト大動脈血管内皮細胞と血管平滑筋細胞を使用した共培養実験モデルそれぞれで、高WSS群 vs. 低WSS群の遺伝子発現解析実験を行い、高WSS負荷に応じて発現変動する遺伝子群の同定を行った。その後、bioinformatics解析を行い、ヒト大動脈組織と培養実験モデルで共通して、高WSS負荷に反応して発現変動する遺伝子群の同定とGO解析を行った。

本検討の結果、血管内皮細胞単培養モデルにおいては、actin filament代謝や細胞骨格に関連する遺伝子群や接着因子に関連する遺伝子群が高WSS負荷に応じて発現増強する可能性が示された (GO解析 Cluster 1)。また、血管内皮細胞単培養モデル・血管平滑筋細胞単培養モデル、及び共培養モデル全体では、cellular response to laminar fluid shear stress, muscle contraction, smooth muscle cell migrationの他、細胞骨格代謝に関連する遺伝子群が発現増強する可能性が示唆された (GO解析 Cluster 2)。一方、高WSS負荷で発現減弱する疾患経路は、response to hypoxia, positive regulation of angiogenesis, negative regulation of endothelial cell proliferation, negative regulation of extrinsic apoptotic signaling pathway などがあり、高WSS負荷でTGFBR2発現が減弱する可能性が示唆された。

大動脈二尖弁症例に合併する胸部大動脈拡大の発生機序はまだ十分に解明されていない、本研究により、従来提唱されてきたMMP・TIMP代謝異常の反応経路以外の疾患経路が存在する可能性が示唆された。大動脈二尖弁症例は、大動脈解離や大動脈破裂などの重篤な大動脈疾患の発生頻度が高いことが報告されているが、本研究結果は、治療成績向上につながる創薬開発につながる可能性を有する。今後、共培養実験モデル実験を使用して、今回同定された遺伝子群の機能解析を行うとともに、臨床面では同定された遺伝子群のバイオマーカーとしての有用性を評価し、本研究プロジェクトを推進する予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Han X, Sakamoto N, Tomita N, Meng H, Sato M, Ohta M.	4. 巻 502
2. 論文標題 Influence of TGF- $\beta$ 1 expression in endothelial cells on smooth muscle cell phenotypes and MMP production under shear stress in a co-culture model	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cytotechnology	6. 最初と最後の頁 403-408
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10616-018-0268-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 坂元尚哉	4. 巻 1
2. 論文標題 せん断応力が血管内皮細胞へ及ぼす影響	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 トライボロジスト	6. 最初と最後の頁 36-44
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計12件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 坂元尚哉, 大山侑樹, 中村匡徳, 木村直行, 川人宏次, 山崎雅史, 藤江裕道
2. 発表標題 内皮-平滑筋細胞共培養モデルのMMP産生に対する高壁せん断応力環境の影響
3. 学会等名 第59回日本生体医工学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 沢崎薫, 堀江悠太, 中村匡徳, 木村直行, 川人宏次, 坂元尚哉
2. 発表標題 衝突噴流環境が血管内皮細胞へ及ぼす影響
3. 学会等名 第59回日本生体医工学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 沢崎 薫, 堀江 悠太, 中村 匡徳, 木村 直行, 川人 宏次, 坂元 尚哉
2. 発表標題 衝突噴流が血管内皮細胞間接着に及ぼす影響
3. 学会等名 日本機械学会第33回バイオエンジニアリング講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 木村直行, 堀大治郎, 草処翔, 清水寿和, 白石学, 川人宏次, 山口敦司
2. 発表標題 大動脈二尖弁性狭窄と大動脈三尖弁性狭窄の治療成績とaortic stiffnessに関する検討
3. 学会等名 第51回日本心臓血管外科学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 木村直行, 堀大治郎, 草処翔, 清水寿和, 野村陽平, 白石学, 川人宏次, 山口敦司
2. 発表標題 弁形態分析に基づく大動脈二尖弁狭窄症例の上行大動脈拡大と治療成績に関する検討
3. 学会等名 第49回日本血管外科学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 沢崎薫, 堀江悠太, 中村匡徳, 木村直行, 川人宏次, 坂元尚哉
2. 発表標題 衝突噴流環境が血管内皮細胞へ及ぼす影響
3. 学会等名 生体医工学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大山侑樹, 中村匡徳, 木村直行, 川人宏次, 山崎雅史, 藤江裕道, 坂元尚哉
2. 発表標題 圧縮コラーゲン組織を用いた共培養モデルに対する 高壁せん断応力の影響
3. 学会等名 日本機械学会 第 32 回バイオエンジニアリング講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 坂元 尚哉, 大山 侑樹, 中村 匡徳, 木村 直行
2. 発表標題 血管内皮細胞のMMPおよびeNOS産生に対する超高壁せん断応力の影響
3. 学会等名 第41回 日本バイオレオロジー学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Naoya Sakamoto, Yuki Oyama, Yuta Horie, Masanori Nakamura,
2. 発表標題 Matrix metalloprotease production of vascular endothelial cells under extremely high wall shear stress condition
3. 学会等名 Joint Conference of Three Societies: The European Society for Clinical Hemorheology and Microcirculation,
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 大山 侑樹, 中村 匡徳, 木村 直行, 坂元 尚哉
2. 発表標題 超高壁せん断応力による血管内皮細胞のMMPおよびeNOS産生の変化
3. 学会等名 日本機械学会 2018年度年次大会
4. 発表年 2018年



1. 発表者名 堀江悠太, 大山侑樹, 中村匡徳, 木村直行, 川人宏次, 坂元尚哉
2. 発表標題 血管内皮細胞の遊走および剥離に対する衝突流れの場の影響
3. 学会等名 日本機械学会 第31回バイオエンジニアリング講演会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 NAOYUKI KIMURA, KOKI KAWAHITO, DAJIRO HORI, KOICHI YURI, ATSUSHI YAMAGUCHI, YUUKI OHYAMA, NAOYA SAKAMOTO, MASANORI NAKAMURA
2. 発表標題 Utility of computational fluid dynamics for thoracic aortic pathology in the era of precision medicine
3. 学会等名 第83回 日本循環器病学会学術集会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	木村 直行  (KIMURA NAOYUKI)  (20382898)	自治医科大学・医学部・教授   (32202)	
研究 分担者	中村 匡徳  (NAKAMURA MASANORI)  (20448046)	名古屋工業大学・工学(系)研究科(研究院)・教授   (13903)	

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 協力者	坂元 尚哉  (SAKAMOTO NAOYA)  (20361115)	東京都立大学・システムデザイン研究科・准教授   (22604)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------